

Катарина Смилков

МИКРОИНКАПСУЛИРАН *LACTOBACILLUS CASEI* КАКО ДОДАТОК НА ИСХРАНА – ТЕХНОЛОШКИ И ФУНКЦИОНАЛНИ СВОЈСТВА

Апстракт

Цел на овој истражувачки труд е формулација на микрочестичен систем составен од Са-алгинат и суруткени протеини, наменет за ефикасно насочување на ослободувањето на пробиотикот *Lactobacillus casei* 01 во долниот интестинум.

За добивање на микрочестичниот систем, користена е комбинација на емулзиска техника со последователно обложување, која опфаќа емулгирање на водена суспензија од натриум алгинат и *Lactobacillus casei* во маслиново масло кое содржи 0.2 % Tween 80 и оцврстување на емулгираните капки преку вкрстено јонотропно вмрежување со двовалентен калциум во раствор од CaCl_2 . За дополнителна стабилизација на микрочестичниот систем, користено е дополнително обложување со нативни, хидратизирани суруткени протеини и последователна лиофилизација. Вмрежувањето на полимерите се одвива во услови на концентрациски ограничувања на алгинатот, CaCl_2 и суруткени протеини, а оптимизацијата на повеќекратните одговори се врши со примена на потполн факторијален дизајн 2^3 . Дефинирањето на експерименталната матрица, моделирањето на одговорите и оценката на квалитетот и соодветноста на моделот е извршено со примена на софтверската програма MODDE 8.0. Експерименталниот план вклучува 11 серии, при што вршена е проценка на дистрибуцијата на честичките по големина, зета-потенцијалот, виталноста на *L. casei* во текот на микроинкапсулирањето, содржината на калциум во честичките, како и ослободувањето и виталноста на пробиотикот во симулиран гастроинтестинален тракт.

Со примена на споменатата техника на инкапсулирање, добиени се честички со прифатлива сферична морфологија, со големина од $36,32 - 77,43 \mu\text{m}$ после оцврстување и $8,35$ до $9,88 \mu\text{m}$ после процесот на лиофилизација, зета потенцијал од $-36,23$ до $-21,07 \text{ mV}$, содржина на калциум од 2,96 до 4,72%, содржина на вода од 2,8 до 3,5 % и виталност на пробиотикот во честичките после лиофилизација од 9,30 до 10,87 $\log_{10}\text{cfu/g}$. Преживувањето и ослободувањето на пробиотикот е следено во симулирани *in vivo* услови, тек на 24 часа, со користење на методот на последователна измена на медиум, при што добиена е виталност од 3,6 до 8,32 $\log_{10}\text{cfu/g}$.

Евалуацијата на добиените резултати од експерименталната матрица, овозможи определување на оптимална формулација, која се состои од 2,5% алгинат, 3% CaCl_2 и 3% суруткени протеини. Физичко-хемиските и функционалните карактеристики на оптималната формулација, ја прават погодна за инкорпорирање во финална фармацевтска формулација како додаток на исхрана или во функционален прехранбен производ за одржување на микробиолошкиот баланс на интестиналната микрофлора, со посебен акцент на состојби поврзани со инфламаторни цревни заболувања и состојби. Терапевтскиот потенцијал на оптималната формулација беше потврден во студија на експериментален модел на колит кај стаорци, при што беше забележано статистички значајно ($p < 0,05$) намалување на активноста на миелопероксидазата и намалување на параметрите поврзани на инфламација.

Клучни зборови: *Lactobacillus casei*, микроинкапсулирање, антивоспалителен ефект.

Katarina Smilkov

MICROENCAPSULATED *LACTOBACILLUS CASEI* AS A FOOD SUPPLEMENT – TECHNOLOGICAL AND FUNCTIONAL PROPERTIES

Abstract

The main aim of this research was to formulate microparticulated delivery system, comprised of Ca-alginate and whey proteins, intended for efficient colon delivery of the probiotic *Lactobacillus casei* 01.

To obtain the microparticulated system, emulsion technique combined with subsequent coating was used. Namely, aqueous suspension of sodium alginate and *L. casei* was emulsified in olive oil with 0.2% Tween 80 followed by hardening of the emulsion droplets in a solution of CaCl_2 . Further stabilization of the microparticulated system was achieved by coating of the formed microparticles with native hydrated whey protein and subsequent lyophilisation. The microencapsulation was carried out in concentration limits of alginate, CaCl_2 and whey protein, while optimization of multiple responses was performed using full factorial design 2^3 . Experimental matrix, modeling of the responses and assessment of the quality and compatibility of the model was accomplished by using software MODDE 8.0. The experimental plan included 11 batches and the assessed responses were particle size distribution, zeta-potential, viability of *L. casei* within the particles after their preparation, calcium content and the release and viability of the microencapsulated probiotic in simulated gastrointestinal conditions.

Particles with acceptable spherical morphology were prepared, with size from 36,32 – 77,43 μm after coating and 8.35 to 9.88 μm after lyophilisation, zeta potential from -36.23 to -21.07 mV, calcium content from 2.96 to 4.72%, moisture content from 2.8 to 3.5 % and viability of the probiotic within the particles after lyophilisation from 9.30 to 10.87 $\log_{10}\text{cfu/g}$. Survival and probiotic release was evaluated in simulated *in vivo* conditions during 24 hours using medium exchange method and survival rate from 3.6 to 8.32 $\log_{10}\text{cfu/g}$ was obtained.

The results obtained from the experimental design pointed to the optimal formulation comprised of 2.5% alginate, 3% CaCl_2 and 3% whey protein. Physicochemical properties and functional characteristics of the optimal formulation make the formulation suitable for incorporation into a final pharmaceutical formulation as a food supplement or into a functional probiotic food for retaining the microbiological balance of the intestinal flora, with a special emphasize on the bowel diseases and states. The therapeutic potential of the optimal formulation was confirmed in a study involving animal model of colitis. Significant decrease ($p < 0,05$) in myeloperoxidase activity and in parameters of inflammation was observed when microparticulated *L. casei* was administered.

Key words: *Lactobacillus casei*, microencapsulation, anti-inflammatory effect.